

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 21720081152681

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

氮素对白骨壤菲毒害的调节研究

The Accommodation of Nitrogen to Polycyclic Aromatic
Hydrocarbons (PAHs) Pollution in *Avicennia marina*

江山

指导教师姓名: 严重玲 教授

专 业 名 称: 生 态 学

论文提交日期: 2011 年 4 月

论文答辩日期: 2011 年 5 月

2011 年 4 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

中文目录

摘 要.....	II
Abstract.....	III
第一章 引言.....	1
1.1 多环芳烃.....	1
1.2 多环芳烃对植物和土壤污染效应的研究.....	3
1.2.1 多环芳烃对植物的生长的影响.....	3
1.2.2 多环芳烃对植物抗氧化酶系统的影响.....	3
1.2.3 多环芳烃对土壤微生物的抑制.....	4
1.3 多环芳烃污染物在根际区域的研究概况.....	5
1.3.1 根际的概念、根际微生物和根际酶.....	5
1.3.2 根际区域多环芳烃的降解研究和影响因素.....	6
1.4 氮素对于多环芳烃降解的促进作用.....	9
1.4.1 氮素对植物降解自身多环芳烃的促进.....	9
1.4.2 氮素对土壤净化多环芳烃的促进作用.....	10
1.5 红树林生态系统的多环芳烃污染研究现状.....	10
1.5.1 多环芳烃对红树植物的危害.....	11
1.5.2 红树林湿地微生物对多环芳烃的降解研究.....	11
1.6 红树林生态系统中多环芳烃的研究方法.....	12
1.6.1 多环芳烃的提取.....	12
1.6.2 提取样品的纯化和分析.....	14
1.7 选题依据.....	14
第二章 材料与方法.....	16
2.1 供试秋茄胚轴、土壤及预处理.....	16
2.2 仪器与试剂.....	16

2.2.1 主要仪器.....	16
2.2.2 主要试剂.....	17
2.3 根际套管盆栽试验设计.....	17
2.4 土样采集与前处理.....	18
2.5 分析测定方法.....	19
2.5.1 土壤理化性质测定.....	19
2.5.2 土壤和植物中菲含量测定.....	19
2.5.3 土壤微生物生物量测定.....	20
2.5.4 土壤酶活性测定.....	21
2.5.5 植物根系多酚氧化酶的测定.....	22
2.5.6 植物根系活力的测定.....	22
2.5.7 植物丙二醛含量的测定.....	22
2.5.8 植物还原性谷胱甘肽的测定.....	23
2.6 统计分析方法.....	23
第三章 实验结果.....	24
3.1 氮菲互作对于土壤酶活性的影响.....	24
3.1.1 氮菲互作对水解酶活性的影响.....	24
3.1.2 氮菲互作对多酚氧化酶活性的影响.....	25
3.1.3 氮菲互作对过氧化物酶活性的影响.....	26
3.1.4 氮菲互作对脱氢酶活性的影响.....	27
3.1.5 氮菲互作对土壤微生物量碳的影响.....	28
3.1.6 氮菲互作对土壤微生物量氮的影响.....	29
3.1.7 氮菲互作对不同根际区域微生物生物量 C:N 值的影响.....	30
3.2 氮素影响下菲在沉积物和白骨壤内残留含量.....	31
3.2.1 氮素影响下菲在白骨壤根系不同沉积物中的残留含量.....	31
3.2.2 氮素影响下菲在白骨壤根部，茎部和叶片的残留含量.....	32
3.3 氮素对于下白骨壤幼苗菲毒害的调节.....	33
3.3.1 根系中多酚氧化酶活性的变化.....	33
3.3.2 丙二醛含量的变化.....	34

3.3.3 根系活力的变化.....	35
3.3.4 还原型谷胱甘肽含量.....	36
3.3.5 植物根系生物量的变化.....	37
第四章 讨论.....	39
4.1 氮菲互作对白骨壤根际不同区域土壤酶的影响.....	39
4.2 氮菲互作对白骨壤根际不同区域微生物生物量的影响.....	42
4.3 氮对于沉积物和植物中菲降解量的影响.....	44
4.4 氮对于白骨壤幼苗菲毒害的调节.....	46
第五章 结论及展望.....	49
5.1 主要结论.....	49
5.2 研究特色与创新.....	50
5.3 不足之处与展望.....	50
参 考 文 献.....	52
致 谢.....	62

CONTENT

Abstract(In Chinese)	II
Abstract(In English)	III
Chapter I Introduction	1
1.1 Polycyclic aromatic hydrocarbon(PAHs)	2
1.2 The study of PAHs pollute to plant and soil	3
1.2.1 The influence of PAHs to vegetative growth	3
1.2.2 The influence of PAHs to antioxidase of plant	3
1.2.3 The restraint of PAHs to edaphon.....	4
1.3 The general research of PAHs in rhizosphere.....	5
1.3.1 The concept of rhizosphere ,microbes and soil enzymes in rhizosphere	5
1.3.2 The degradation of PAHs in rhizosphere and influencing factors	6
1.4 The facilitating of nitrogen to degradation of PAHs	9
1.4.1 The facilitating of nitrogen to degradation of PAHs in plant	9
1.4.2 The facilitating of nitrogen to degradation of PAHs in soil	10
1.5 The research of PAHs in mangrove.....	10
1.5.1 The damage of PAHs to mangrove plant.....	11
1.5.2 The degradation of PAHs in mangrove sediment	11
1.6 The research methods of PAHs	12
1.6.1 The extract methods of PAHs in environment	13
1.6.2 The purification and analysis of PAHs samples.....	14
1.7 The main aim and content of this paper.....	14
Chapter II Materials and Methods	16
2.1 Sampling and handling of sediment samples	16
2.2 Instruments and Reagents	16

2.2.1 Main Instruments	16
2.2.2 Main reagents	17
2.3 The design of rhizosphere tubes	17
2.4 Collection and pretreatment of soil sample	18
2.5 Analytical Methods.....	19
2.5.1 Analysis of soil physical and chemical properties	19
2.5.2 Analysis of extractable Phe contents in sediment and <i>Avicennia marina</i> ...	19
2.5.3 Analysis of soil microbial biomass	19
2.5.4 Analysis of soil enzymes	21
2.5.4 The measurement of activity for polyphenol oxidase	21
2.5.4 The measurement of root vigor	21
2.5.4 The measurement of malondialdehyde content	21
2.5.4 The measurement of reduced glutathione content.....	21
2.6 Statistical analysis.....	23
Chapter III Results	24
3.1 The influences of nitrogen and Phe application together to soil enzymes...24	
3.1.1 The influence to fluorescein diacetate hydrolase activity.....	24
3.1.2 The influence to soil polyphenol oxidase activity	25
3.1.3 The influence to soil peroxidase activity	26
3.1.4 The influence to soil dehydrogenase activity	27
3.1.5 The influence to soil microbial biomass carbon	28
3.1.6 The influence to soil microbial biomass nitrogen.....	29
3.1.7 The influence to soil microbial biomass rate	30
3.2 The residual quantity of Phe in sediment and plant	31
3.2.1 The residual quantity of Phe in sediment	31
3.2.2 The residual quantity of Phe in plant.....	32
3.3 The alleviation of nitrogen to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in <i>Avicennia marina</i>	33
3.3.1 The change of polyphenol oxidase activity in root.....	33

3.3.2 The change of malonaldehyde content in root	34
3.3.3 The change of root vigor.....	35
3.3.4 The change of reduced glutathione content.....	36
3.3.5 The change of root biomass.....	37
Chapter IV Discussion.....	39
4.1 The effect of nitrogen and Phe application together to soil enzymes.....	39
4.2 The effect of soil microbial biomass.....	42
4.3 The effect of nitrogen to degradation of Phe.....	44
4.4 The reason for accommodation of nitrogen to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) Pollution in <i>Avicennia marina</i>	46
Chapter V Conclusions and Prospect.....	49
5.1 Main conclusions	49
5.2 Innovation of this research	50
5.3 Disadvantage and Prospect.....	50
References	52
Acknowledgement	62

摘要

近年来,红树林湿地有机污染问题越来越突出,日益引起了人们的关注。根际是植物进行物质交换频繁的特殊微型生态区域,是有机物特别是持有性有机污染物进入红树植株内部的门户。根际微域复杂的微生物对植物的生长非常重要,并与有机污染物的吸收、转化和降解等生态化学行为及毒理效应密切相关。然而有关红树林湿地,营养元素对有机污染物毒害调节作用的研究鲜见报道,特别是对红树植物根际的微生物生态效应我们仍然所知甚少。

本研究通过自制根际套管,完全做到了根际研究器皿体积小,能避免施毒不均、植物个体差异等实验干扰因素,不易对植物产生定向诱导。能直观表征次外层和外层根系活动,较好揭示根系活力范围和土壤微生物在根系作用下的分层以及施毒后的原位变化。根际套管栽种红树植物白骨壤(*Avicennia marina*)幼苗,分离根际与全土区域,研究营养元素氮对多环芳烃菲对白骨壤幼苗不同根际区域微生物指标的影响。试验设置对照、10、50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 三个菲胁迫处理,对照、30、80、300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的氮素处理,进行全交互实验。沙培育苗60天后,转移至根箱,土培白骨壤幼苗50天,对不同根际微域(根际、近根际、远根际、非根际)的菲残留量、土壤微生物生物量碳、氮含量, FDA水解酶、脱氢酶、过氧化物酶活性以及植物生理指标等方面进行测定分析,探讨了氮素对于菲的调节作用。主要的结论有:

1. 菲对不同土壤酶的影响各异:菲对FDA酶起到抑制的作用。多酚氧化酶、过氧化物酶和脱氢酶在低浓度菲处理时,活性有增高,随着菲浓度上升,酶活性降低。适当浓度的氮素可以促进酶活性的增加,高浓度氮素会产生一定的抑制效用,特别是在根际区域。

2. 微生物量对低浓度菲响应不显著,只有菲浓度上升到50mg/kg时,出现抑制。微生物量碳、氮对于氮素的施加非常敏感,外源性施加氮素会大幅提升微生物量。氮素的抑制作用同样也集中在根系区域,非根系区域不显著。施加氮素后,微生物量C:N值上升。低浓度的菲也可以引起微生物量C:N值上升,高浓度菲则会引起下降。

3. 白骨壤幼苗根际、近根际区域的土壤微生物生物量和酶活性均显著大于非根际环境。说明根系诱导的根际效应促进了根际微生物和酶的活性，有利于白骨壤幼苗的生长

4. 根箱盆栽 50 天后，由于受到白骨壤幼苗根系活动和土壤微生物的影响，沉积物中的菲半数以上已经降解。在根系相同位置的低浓度菲降解量比高浓度菲高 4.28%—7.26%。根际区域的降解比率远高于非根际区。氮素对菲的降解作用，随浓度的上升，从促进最终转为抑制。

5. 菲在白骨壤不同器官中的的残留量有显著差异，根系中菲残存浓度高于茎和叶中。其中以须根中的浓度最高。施加氮素后，茎中的菲残留量不随氮素的施加而改变，但是根系和叶片中的菲随着氮素浓度的提升而显著降低。但是高浓度氮素会对根系菲的降解产生一定的抑制。

6. 施加氮素后，白骨壤根系中多酚氧化酶等酶活性变化不显著，但是根系活力和根系生物量有显著提高。低浓度的菲可以刺激白骨壤根系的多酚氧化酶活性提升，保护植物细胞质膜不受损伤，高浓度菲生物毒性过强，白骨壤的酶系统无法完成生物解毒，因而造成质膜过氧化程度增加，生物量降低。

7. 综上所述，氮素可以促进菲的降解，保护植物在一定程度内避免菲的毒害，但是如果氮素施加浓度过高，也会对植物产生胁迫作用。

关键词：白骨壤（红树） 氮 菲 根际 调节

Abstract

Nowadays, the organic pollution in mangrove ecosystem became more and more serious and aroused public attention. It is generally believed that rhizosphere plays an important role in the bioavailability of organic pollution in mangrove habitats and has closed connection with absorption, transformation and degradation of organic contaminant. However, there is seldom report about the alleviation effect of nutrient element to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in mangrove ecosystem, especially the effects of microorganisms in rhizosphere of mangroves. In this paper, mangrove (*Avicennia marina*) seedlings were cultivated in the rhizotubes under different nitrogen and phenanthrene concentrations. There are three concentrations about phenanthrene (Phe), which are 0, 10, 50 mg·kg⁻¹ respectively. The concentrations about nitrogen are 0, 30, 80, 300 mg·kg⁻¹. Interactive experiment is carried in illumination cubator. The microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, the activities of fluorescein diacetate hydrolase, dehydrogenase, polyphenol oxidase and peroxidase between plant rhizosphere and bulk sediment were studied after fifty days cultivation, in an attempt to understand the eco-toxicology effects of Phe stress and alleviating effect of nitrogen on the rhizosphere environment of mangroves. The results were as follow:

- I. The Phe affects the soil enzymes differently. It can fully restrain the activity of fluorescein diacetate hydrolase. However, the activities of hydrolase, dehydrogenase, polyphenol oxidase and peroxidase increase slightly with the low concentration Phe adding. With the rising of Phe concentration, the activities of soil enzymes drop down. The low concentration of nitrogen (80 mg·kg⁻¹) could enhance activities of soil enzymes. The high concentration of nitrogen may decrease the activities, especially in the rhizosphere.
- II. The microbial biomass is not sensitive to low concentration Phe, unless the concentration reaches 50 mg·kg⁻¹. The microbial biomass carbon and nitrogen

response the exogenous nitrogen quickly. The microbial biomass soars significantly with nitrogen adding. However, the inhibitory action is remarkable in rhizosphere and has little effect in non- rhizosphere. The microbial biomass C:N ratios increase under the condition of low concentration of Phe and nitrogen. The high concentration of Phe can decrease the C:N ratios.

- III. The microbial biomass and enzyme activities were increased with the decreasing distance from the roots, indicating the rhizosphere effect inducing by the roots promoted the activities of rhizosphere microbes and enzymes, which was beneficial to the growth of *Avicennia marina* seedlings.
- IV. After 50 days, more than half of the Phe in sediment has been degradation. The rate in low Phe group is higher than high Phe group at 4.28%—7.26%. The degradation in rhizosphere is much more thoroughly than non-rhizosphere. The exogenous nitrogen can accelerate the degradation, but if the concentration is too high, the degradation could be slow down.
- V. The Phe concentration in *Avicennia marina* root is much higher than stem and leaves. And the highest concentration is in the fibril. The residual Phe in the stem can not change with exogenous nitrogen, but the Phe in root and leaves declines if there are nitrogen adding. While, the high concentration nitrogen can reduce the degradation in the root.
- VI. The nitrogen can not change the activity of PPO in the root, but the root vigor and biomass increase. The activity of PPO goes up after low concentration Phe adding, in order to protect the plasmalemma. The high concentration Phe could damage the root irreversible. So the activities of enzymes drop down, the biomass of root decrease, the plasmalemma impaired.
- VII. After all, the nitrogen can help the mangrove system keep eco-balance, and alleviation the damage of PAHs. But high concentration is another kind of stress.

Keywords: *Avicennia marina*; nitrogen; phenanthrene (Phe); rhizosphere; alleviation




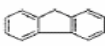

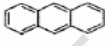



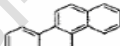
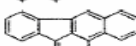
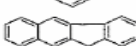
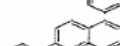
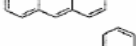
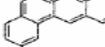
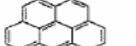
第一章 引言

1.1 多环芳烃

多环芳烃 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) 是一类常见的持久性有机污染物, 具有长期残留性、生物蓄积性、半挥发性和高毒性, 并通过多种环境介质 (大气、水、生物体等) 传播, 能够长距离迁移并对人类健康和环境具有严重危害的天然或人工合成的有机污染物^[1]。多环芳烃的分子中包含有两个或两个以上苯环的碳氢化合物, 并且相邻的苯环至少有两个共用碳原子, 这些苯环以线状、角状或簇状排列形成稠环型化合物。多环芳烃对生物体具有强烈的致癌致畸变作用^[2], 1979 年, 美国环保局(EPA) 首先公布 129 种优先监测污染物, 其中多环芳烃有 16 种^[3, 4]。表 1—1 是这 16 种亲体多环芳烃的化学式、结构式和部分物理化学性质, 欧洲和中国也将多环芳烃列入了优控污染物名单^[5, 6]。

表 1—1 16 种亲体多环芳烃^[7]

Table 1-1 16 parent PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbon)

名称	分子量	溶解度 (mg L ⁻¹)	log P	K _{oc}	结构式
Naphthalene C ₁₀ H ₈	128	31.00	3.30	2.00 10 ³	
Acenaphthylene C ₁₂ H ₈	152	16.10	3.94		
Acenaphthene C ₁₂ H ₁₀	154	3.90	3.92	7.08 10 ³	
Fluorine C ₁₃ H ₁₀	166	1.90	4.18	1.38 10 ⁴	
Phenanthrene C ₁₄ H ₁₀	178	1.15	4.46		
Anthracene C ₁₄ H ₁₀	178	0.045	4.54	2.95 10 ⁴	
Fluoranthene C ₁₆ H ₁₀	202	0.26	5.20	1.07 10 ⁵	
Pyrene C ₁₆ H ₁₀	202	0.132	5.18	1.05 10 ⁵	
Benz[<i>a</i>]anthracene C ₁₈ H ₁₀	228	0.0094	5.76	3.98 10 ⁵	
Chrysene C ₁₈ H ₁₂	228	0.002	5.81	3.98 10 ⁵	
Benzo[<i>b</i>]fluoranthene C ₂₀ H ₁₂	252	0.0015	5.80	1.23 10 ⁶	
Benzo[<i>k</i>]fluoranthene C ₂₀ H ₁₂	252	0.0008	6.00	1.23 10 ⁶	
Benzo[<i>a</i>]pyrene C ₂₀ H ₁₂	252	0.0016	6.13		
Dibenz[<i>ah</i>]-anthracene C ₂₂ H ₁₄	278	0.0006	6.75	3.80 10 ⁶	
Benzo[<i>ghi</i>]perylene C ₂₂ H ₁₂	276	0.00026	6.63		
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]-pyrene C ₂₂ H ₁₂	276	0.0002	6.70	3.47 10 ⁶	

多环芳烃的产生分为天然源和人为源，火山活动、森林火灾等是天然的多环芳烃的主要来源。Soren等^[8]发现：在特殊的条件下，微生物和植物能够微量合成某些多环芳烃。

然而，与人为途径产生的多环芳烃相比，天然来源的多环芳烃并不是构成目前环境中多环芳烃的主要部分。因此，通常意义上的多环芳烃污染物都是来源于人为途径，每年人类活动大约要向全球大气和海洋分别排放约几十万吨的多环芳烃^[9,10]。人为源来自工业生产和加工（如焦炭、碳黑和煤焦油的生产、原油及其衍生物的精炼和分馏等），以及有机物的不完全燃烧等过程。在人为源中，人为的燃料燃烧是工业发达国家和城市地区多环芳烃的重要贡献因子。

多环芳烃广泛分布于水体、土壤和大气中，在全球乃至我国许多地方已出现较严重污染的情况。多环芳烃由于性质稳定、难于降解，在环境中呈不断积累的趋势，严重危害人类健康，因此，多环芳烃污染及其修复技术越来越受到研究者的重视。

1.2 多环芳烃对植物和土壤污染效应的研究

1.2.1 多环芳烃对植物的生长的影响

多环芳烃，特别是环境中长时间存在的多环芳烃污染可以严重影响植物生长、发育。研究表明：多环芳烃对植物种子的萌发有影响：油菜种子在萘、芘和荧蒹污染试验的萌发过程中，根的数量降低，长度变短^[11]；Henner^[12]通过水培处理观察多环芳烃对玉米、酥油草、一年生黑麦草等种子萌发的影响发现：在萌发早期（前 5 天），多环芳烃处理下的所有种子萌发与对照相比出现延迟，但是随着萌发时间的延长，这种延迟现象消失；Baek 等^[13]认为萘、菲、芘对玉米及红豆的毒害作用随苯环的增加而增加，且含量为 0.001%—0.1%的多环芳烃可观察到其毒害症状。Maliszewska 等^[14]用苈、蒽、芘等分别土培小麦、燕麦和玉米等 6 种作物，在培养初期，土壤中多环芳烃质量浓度低于 10 mg/L 时对作物生长有刺激作用，最低的植物毒害阈值为 100 mg/L。Ren 等^[15]通过研究荧蒹、菲、萘对水萍的光诱导性毒害影响，结果表明：植物的生长、失绿现象可以作为最终评价多环芳烃光诱导毒害的指标，随着苯环的增加其毒害症状趋于明显。郑文教等使用多环芳烃芘对红树植物秋茄进行外源施毒，研究了芘对秋茄光和色素的损害以及气孔导度的抑制^[16]。

1.2.2 多环芳烃对植物抗氧化酶系统的影响

由于多环芳烃在生物体内代谢过程会产生氧自由基，而生物体内过量的氧自由基会给生物造成过氧化伤害，因此，生物体内的抗氧化系统对多环芳烃污染有一定的响应。植物细胞体内的抗氧化系统包括抗氧化酶系和小分子抗氧化物。抗氧化酶系主要有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库